

Научная статья

УДК 619:616.993.192

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

## Проблема разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов рыб, теоретические и практические подходы к её решению

Леонид Николаевич Фетисов<sup>1</sup>, Александра Евгеньевна Святогорова<sup>2</sup>,  
Кристина Николаевна Кононенко<sup>3</sup>, Виктория Владимировна Чекрышева<sup>4</sup>,  
Александр Александрович Зубенко<sup>5</sup>

<sup>1-5</sup> Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», Новочеркасск, Россия

<sup>1</sup> fetisoff.leonid2018@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>

<sup>2</sup> sviatogorova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>

<sup>3</sup> velikayakrista@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>

<sup>4</sup> veterinar1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>

<sup>5</sup> alexsandrzubenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>

### Аннотация

**Цель исследований** – определить безопасные параметры использования некоторых амидов жирных кислот при протозойных болезнях рыб.

**Материалы и методы.** Исследования по синтезу и определению биологической активности новых соединений проводили в лабораторных условиях ТК химического синтеза Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института. Протистоцидную активность новых веществ определяли в жидкой питательной среде методом серийных разведений по нашей методике. В качестве тест-культуры использовали инфузорий *Colpoda steinii*. Токсичность растворов определяли на аквариумных рыбах Гуппи (*Poecilia reticulata*). Учет эффективности проводили по альтернативной форме реакции: протистоцидной считали минимальную концентрацию, при которой погибали все особи простейших; за безопасную для рыб принимали максимальную концентрацию, при которой все рыбы оставались живы, т. е. первую после абсолютно смертельных концентраций. Соблюдение этих условий потребовало приготовление растворов с минимальными интервалами концентрации от 1 до 0,1 мкг/мл, а также непрерывного наблюдения с фиксацией результатов. Тестировали два соединения: амид миристиновой кислоты и амид олеиновой кислоты.

**Результаты и обсуждение.** При концентрации водного раствора амида миристиновой кислоты 0,2 мкг/мл рыбы сохраняли жизнеспособность в течение 3 сут в растворе (срок наблюдения), а в растворе концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы оставались живыми 3,5 ч и более (до 20 ч). В тоже время, концентрация 0,14 мкг/мл оказывала протистоцидное действие на простейших *C. steinii* при экспозиции 40 мин. Максимально переносимая для рыб концентрация амида олеиновой кислоты составила 1 мкг/мл при экспозиции 2 и более сут и 2 мкг/мл при экспозиции 4 ч. Минимальный уровень протистоцидной активности амида олеиновой кислоты составил 0,58 мкг/мл при экспозиции 18 ч.

**Ключевые слова:** амид миристиновой кислоты, амид олеиновой кислоты, протистоцидная активность, токсичность, рыба

**Прозрачность финансовой деятельности:** никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

**Конфликт интересов отсутствует**

**Для цитирования:** Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н., Чекрышева В. В., Зубенко А. А. Проблема разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов рыб, теоретические и практические подходы к её решению // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 367–376.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

© Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н., Чекрышева В. В., Зубенко А. А., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.  
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

# Development issue of antiprotozoal agents to treat and prevent protozoal infections of fish, and theoretical and practical approaches to its solution

Leonid N. Fetisov<sup>1</sup>, Alexandra E. Svyatogorova<sup>2</sup>, Kristina N. Kononenko<sup>3</sup>,  
Viktoria V. Chekrysheva<sup>4</sup>, Aleksandr A. Zubenko<sup>5</sup>

<sup>1-5</sup> North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute - branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Rostov Agricultural Research Center", Novocherkassk, Russia

<sup>1</sup> fetisoff.leonid2018@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>

<sup>2</sup> sviatogorova.a@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>

<sup>3</sup> velikayakrista@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>

<sup>4</sup> veterinar1987@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>

<sup>5</sup> alexsandrzubenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>

## Abstract

**The purpose of the research** is to determine safe parameters for the use of certain fatty acid amides against protozoal diseases of fish.

**Materials and methods.** The synthesis and biological activity determination of new compounds were studied in laboratory conditions of the chemical synthesis creative team of the North Caucasus Zonal Research Veterinary Institute. The protistocidal activity of the new substances was determined in a liquid nutritional medium by serial dilution according to our technique. The ciliate *Colpoda steinii* was used as a test culture. The solution toxicity was determined on aquarium Guppy (*Poecilia reticulata*). The efficacy was assessed according to an alternative form of the response: the minimum concentration that all protozoan species died in was considered as protistocidal; the maximum concentration that all fish remained alive in was recognized as safe for the fish, i.e., the first concentration after the absolute lethal concentrations. Compliance with these conditions required the prepared solutions having minimal concentration ranges from 1 to 0.1 µg/mL, as well as continuous monitoring with recording the results. Two compounds were tested, namely, myristic acid amide and oleic acid amide.

**Results and discussion.** The fish remained viable in the aqueous myristic acid amide solution concentration of 0.2 µg/mL for 3 days (monitoring period), and the fish remained alive for 3.5 hours or more (up to 20 hours) in the solution concentration of 0.5 µg/mL. At the same time, a concentration of 0.14 µg/mL had a protistocidal effect on the protozoan *C. steinii* if exposed for 40 minutes. The maximum tolerated oleic acid amide concentration for fish was 1 µg/mL if exposed for 2 or more days and 2 µg/mL if exposed for 4 h. The minimum protistocidal activity level of oleic acid amide was 0.58 µg/mL at an 18 h exposure.

**Keywords:** myristic acid amide, oleic acid amide, protistocidal activity, toxicity, fish

**Financial Disclosure:** none of the authors has financial interest in the submitted materials or methods.

**There is no conflict of interests**

**For citation:** Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N., Chekrysheva V. V., Zubenko A. A. Development issue of antiprotozoal agents to treat and prevent protozoal infections of fish, and theoretical and practical approaches to its solution. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 367–376. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-367-376>

© Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N., Chekrysheva V. V., Zubenko A. A., 2022

## Введение

Продолжительное время в СКЗНИВИ ведутся работы по синтезу и определению биологической активности новых соединений

– до 150 ежегодно. При этом оценивается наличие и величина антибактериальной, фунгистатической и протистоцидной активности веществ. Среди исследованных веществ, при-

надлежащих к различным классам и группам химических соединений, чаще всего устанавливали высокую антипротозойную активность (от 15,6 до 0,24 мкг/мл в отношении инфузорий *C. steinii*). Были основания предполагать, что среди изученных соединений удастся без труда обнаружить активно действующие субстанции для разработки антипротозойных средств для лечения и профилактики протозоозов у рыб. К сожалению, задача по разработке нового антипротозойного средства оказалась сложнее и не ограничивалась обнаружением соединений с высокой протистоцидной активностью.

Существует ряд причин, затрудняющих разработку и эффективное использование новых антипротозойных субстанций:

1. Простейшие, как и другие животные, в том числе и рыбы – это эукариоты. По классификации А. Л. Тахтаджяна [12], простейшие в макросистеме живых организмов в биосфере относятся к надцарству ядерных, царству животных, подцарству простейших. В царство животных входят и многоклеточные [12]. Таким образом, несмотря на то, что простейшие – это одноклеточные организмы, им присущи признаки и свойства сложных многоклеточных организмов: их клетки имеют оболочку, цитоплазму, ядро и другие органеллы. Обменные процессы их схожи с таковыми у многоклеточных животных. Благодаря сходству со сложными эукариотическими организмами, простейших часто используют при определении токсичности (опасности), например, кормов для животных. Комбикормовые заводы, осуществляя входной контроль зернового сырья, проводят исследования всех партий на токсичность (обусловленную, к примеру, наличием в зерне микотоксинов). В качестве тест-организмов используются простейшие, чаще всего инфузории: тетрахимены, стилоухии, колподоы и парамеции. Авторы подобных методик полагают, что полученные на простейших данные по токсичности, объективно отражают уровень опасности того или иного корма для других животных эукариотов, например, сельскохозяйственных животных, птиц и рыб [13].

2. Поскольку протисты и сельскохозяйственные животные относятся к эукариотам и имеют много сходных моментов в обмене веществ, постольку существует объективная

трудность в изыскании антипротозойных средств, эффективно убивающих простейших и безопасных для многоклеточных животных (сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы) [9]. Большинство антибиотиков, предназначенных для уничтожения бактерий, на простейших не действуют, как и на другие эукариотические организмы и это хорошо, так как, в противном случае, антибиотики убивали бы и животных, и людей. Напротив, эффективные протистоцидные средства, с большой вероятностью, будут опасными для других эукариотических организмов (животных, птиц и, в особенности, рыб) [2, 3, 11].

3. Тот факт, что и возбудители протозоозов – инфузории, как паразиты, и рыбы, как «хозяева» относятся к ядерным организмам – эукариотам, резко сужает возможности поиска новых антипротозойных средств ввиду потенциальной опасности оказаться токсичными для многоклеточных организмов. Исследователи, занимающиеся таким поиском, вынуждены постоянно решать одновременно две противоположные задачи: предлагать новые протистоцидные средства с высоким уровнем активности и, в то же время, безопасные для здоровья рыб. Зачастую, задача оказывается неразрешимой: снижая концентрацию соединения или сокращая время его воздействия на рыб, обеспечиваем безопасность для рыб, но при этом утрачиваем частично или полностью его антипротозойную эффективность.

4. Особенным моментом при решении этой задачи является также то, что паразиты (простейшие) и хозяева (рыбы) обитают в одной среде – воде [4, 6, 7]. Затрудняющим лечение фактором является необходимость уничтожать паразитов, например, инфузорий и жгутиконосцев, на коже, жабрах и внутренних органах рыб. Жабры, в любом случае, оказываются под воздействием препарата, так как рыба может получать кислород только из воды, прокачивая её между жаберными лепестками. Так как лечебные препараты растворяются в воде, то орган дыхания рыб – жабры оказываются под воздействием любого антипротозойного средства. Существует много препаратов, обладающих протистоцидной эффективностью в отношении как модельных простейших, так и патогенных инфузорий и жгутиконосцев [1, 10, 19–21]. Их активность проявляется, казалось бы, в низких концен-

трациях – от 1 до 0,1 мкг/мл. Тем не менее, даже в таких низких концентрациях многие вещества остаются опасными для рыб, поражая, в первую очередь, их жаберный аппарат.

В СКЗНИВИ проводятся исследования по синтезу и определению биологической активности новых соединений с целью отбора новых субстанций для разработки антибактериальных и протистоцидных средств [8, 11, 17, 18]. Одними из перспективных соединений оказались катионные поверхностно-активные вещества ряда амидов жирных кислот, обладающие одновременно протистоцидной и антибактериальной активностью.

Цель настоящей работы – определить безопасные параметры использования некоторых амидов жирных кислот при протозойных болезнях рыб.

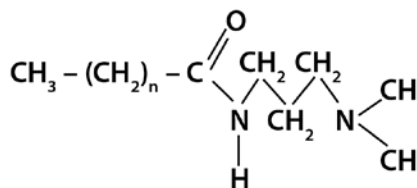
Исходя из вышесказанного, можно вести целенаправленный поиск новых соединений, подавляющих жизнеспособность простейших в небольших концентрациях и при этом безопасных для рыб, либо использовать обнаруженные протистоцидные вещества совсем уже в минимальных концентрациях (субпротистоцидные), но при длительных экспозициях.

Задача состояла в том, чтобы обосновано найти пределы концентраций соединений и режим обработки рыб (длительность воздействия), при которых ещё сохраняется антипротозойная активность растворов, а рыбы сохраняют жизнеспособность. В основу этих исследований были положены порядок и принципы определения химиотерапевтического индекса новых соединений [5]. Известно, что эффективность химиотерапевтического воздействия зависит от дозы препарата. Высшая доза должна отличаться от предыдущей низшей настолько, чтобы изменение эффекта было достаточно ощутимым и лежало за пределами возможной ошибки. Весьма существенно определение дозы, дающей максимально возможный эффект. Для характеристики препарата следует определить отношение максимально переносимой дозы препарата для рыб (в нашем случае, концентрации водного раствора соединения) к минимальной дозе, дающей максимальный эффект (минимальная протистоцидная концентрация).

## Материалы и методы

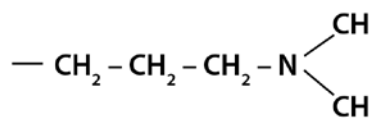
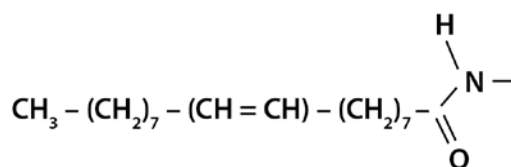
Протистоцидную активность новых веществ определяли в жидкой питательной среде методом серийных разведений по нашей методике [14, 17]. В качестве тест-культуры использовали инфузорию *C. steinii*. Токсичность растворов определяли на аквариумных рыбах Гушпи (*Poecilia reticulata*). Группы были сформированы слепым методом. В группах 1–6, 9, 11, 13, 14 находилось по 2 самки и 1 самцу, в 7 и 10-й группе – 3 самки, в 8-й – 2 самца и 1 самка, в 12-й – 3 самца. Эффективность препарата учитывали по альтернативной форме реакции: протистоцидной считали минимальную концентрацию, при которой погибали все особи простейших; за безопасную для рыб принимали максимальную концентрацию, при которой все рыбы оставались живы, т. е. первую после абсолютно смертельных концентраций. Готовили растворы с минимальными интервалами концентрации от 1 до 0,1 мкг/мл.

Тестировали два соединения: амид миристиновой кислоты и амид олеиновой кислоты.



Соединение 1. Структурная формула амида миристиновой кислоты (n = 12) [15]

Compound 1. Structural formula of myristic acid amide (n = 12)



Соединение 2. Структурная формула амида олеиновой кислоты (n=14)

Compound 2. Structural formula of oleic acid amide (n = 14)

## Результаты и обсуждение

Результаты определения максимально переносимой для рыб концентрации амида мирисиновой кислоты приведены в таблице 1.

При пребывании рыб в растворе с концентрациями 0,05; 0,075; 0,1; 0,15 и 0,2 мкг/мл их состояние не изменилось, все рыбки были живы и активны. Время наблюдения за рыбками 1–5 опытных групп составило трое суток.

При повышении концентрации до 0,5 мкг/мл у рыб шестой опытной группы в течение 3,5 ч с момента начала опыта изменений не наблюдали; все рыбки были живы и активны. Спустя 20 ч с начала опыта самец потерял подвижность, наступила гибель. У самок отмечали замедленную активность, затруднённое дыхание, сопровождающееся нетипичным движением жабр. По истечении ещё одних суток и в последующие дни самки остались живы.

Таблица 1 [Table 1]

### Результаты изучения токсического действия водных растворов амида мирисиновой кислоты на рыб вида Гуппи

[Results of the study of the toxic effects of aqueous solutions of myristic acid amide on fish of Guppy]

Группа [Group]	Концентрация растворов, мкг/мл [Concentration of solutions, µg/ml]	Результаты испытания, п/ж* [Test results, d/a*]
1	0,05	0/3
2	0,075	0/3
3	0,1	0/3
4	0,15	0/3
5	0,2	0/3
6	0,5	1/3
7	1	3/0
8	2,5	3/0
9	5	3/0
10	10	3/0
11	20	3/0
12	25	3/0
13	50	3/0
14	100	3/0

Примечание. п/ж\* – погибшие/живые  
[Note]. d/a\* – dead/alive

При концентрации раствора амида мирисиновой кислоты 1 мкг/мл и выше гибель наступала в более ранние сроки. Более подробная картина интоксикации описана в нашей статье [16].

Для изучения антипротозойной активности проводили оценку и сравнение протистозидной активности водных растворов с различным содержанием амида мирисиновой кислоты в отношении простейших *C. steinii* (ресничные). В таблице 2 приведены результаты определения минимальной концентрации амида мирисиновой кислоты, вызывающие максимальный эффект – гибель всех простейших.

Результаты, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что минимальный уровень протистозидной активности амида мирисиновой кислоты составляет 0,14 мкг/мл при экспозиции 40 мин., 0,58 мкг/мл – 10, 1,16 мкг/мл – 5 мин.

Таким образом, при концентрации водного раствора амида мирисиновой кислоты 0,2 мкг/мл рыбы сохраняют жизнеспособность в течение 3 сут в растворе (срок наблюдения), а в растворе концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы остаются живыми 3,5 ч и более (до 20 ч). В тоже время, концентрация 0,14 мкг/мл оказывает протистозидное действие на простейших *C. steinii* при экспозиции 40 мин. Химиотера-

Таблица 2 [Table 2]

Результаты изучения протистоцидной активности амида миристиновой кислоты  
в отношении простейших *C. steinii*

[Results of the study of the antistocidal activity of myristic acid amide against the protozoan species *C. steinii*]

Экспозиция, мин. [Exposure, min.]	Концентрация раствора амида миристиновой кислоты в лунке, мкг/мл [Concentration of myristic acid amide solution in the well, µg/ml]						
	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14
5	+	+	+	+	-	-	-
10	+	+	+	+	+	-	-
20	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	-
40	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. «+» - простейшие погибли; «-» - простейшие живы

[Note]. "+" - the simplest ones died; "-" - the protozoa are alive

певтический индекс для амида миристиновой кислоты составил:

$$0,2 \text{ (мкг/мл)} / 0,14 \text{ (мкг/мл)} = 1,43$$

(при экспозиции 3 сут);

$$0,5 \text{ (мкг/мл)} / 0,14 \text{ (мкг/мл)} = 3,57$$

(при экспозиции 3,5 ч).

В таблицах 3 и 4 приведены результаты по определению безопасной концентрации водных растворов амида олеиновой кислоты для рыб и минимального уровня протистоцидной активности в отношении колпод.

Таким образом, максимально переносимая для рыб концентрация амида олеиновой кислоты составляет 1 мкг/мл при экспозиции 2 и более суток и 2 мкг/мл при экспозиции 4 ч.

Следует отметить, что самцы оказались более чувствительны к испытываемым соединениям. В отличие от самок, они остро реагировали на присутствие соединений растворов амидов миристиновой и олеиновой кислот; наблюдали их быстрое угнетение, и у них раньше наступала смерть.

Таблица 3 [Table 3]

Результаты изучения токсического действия водных растворов амида олеиновой кислоты на рыб вида Гуппи  
[Results of the study of the toxic effects of aqueous solutions of oleic acid amide on fish of Guppy]

Группа [Group]	Концентрация растворов, мкг/мл [Concentration of solutions, µg/ml]	Результаты испытания, п/ж* [Test results, d/a]
1	0,5	0/3
2	0,25	0/3
3	0,125	0/3
4	1	0/3
5	2	1/3
6	3	3/0

Примечание. п/ж\* - погибшие/живые

[Note]. d/a\* - dead/alive

Патологоанатомический анализ погибших особей проводили при наружном осмотре их кожного покрова и плавников, состояния чешуи, затем обнажали жаберы удалением жаберных крышек ножницами и проводили осмотр жабер.

У всех погибших опытных животных отмечали потемнение жаберных тычинок и

жаберных лепестков – они приобрели тёмно-красный цвет. На теле рыб наблюдали белый налёт.

Таким образом, амид миристиновой кислоты в концентрациях выше 0,5 мкг/мл и амид олеиновой кислоты в концентрациях выше 2 мкг/мл провоцируют затруднение, затем остановку дыхания и приводят к гибели рыб. Мак-

Таблица 4 [Table 4]

Результаты изучения протистоцидной активности амида олеиновой кислоты  
в отношении простейших *C. steinii*

[Results of the study of the antistocidal activity of oleic acid amide against the protozoan species *C. steinii*]

Экспозиция [Exposure]	Концентрация раствора амида олеиновой кислоты в лунке, мкг/мл [Concentration of oleic acid amide solution in the well, µg/ml]												
	151,25	75,63	37,5	18,5	9,25	4,63	2,31	1,16	0,58	0,29	0,14	0,08	0,04
2 мин.	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
5 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
10 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
15 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
20 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
30 мин.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
1 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2 ч	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
3 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
4,5 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
6 ч	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
18 ч	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Примечание. «+» - простейшие погибли; «-» - простейшие живы  
[Note]. "+" - the simplest ones died; "-" - the protozoa are alive

симально переносимая концентрация амида миристиновой кислоты составила 0,2 мкг/мл, амида олеиновой кислоты – 1 мкг/мл, при которых все рыбы оставались живыми и активными в течение 3 сут (срок наблюдения). В растворе амида миристиновой кислоты с концентрацией 0,5 мкг/мл рыбы оставались живыми и сохраняли активность в течение 3,5 ч, амида олеиновой кислоты концентрацией 2 мкг/мл – в течение 2 ч 20 мин.

Результаты, приведенные в таблице 4, свидетельствуют о том, что минимальный уровень протистоцидной активности амида олеиновой кислоты составляет 0,58 мкг/мл при экспозиции 18 ч.

Химиотерапевтический индекс водного раствора амида олеиновой кислоты составил:

$$1 \text{ (мкг/мл)} / 0,58 \text{ (мкг/мл)} = 1,72$$

(при экспозиции 18 ч);

$$2 \text{ (мкг/мл)} / 0,58 \text{ (мкг/мл)} = 3,45$$

(при экспозиции 4 ч).

### Заключение

Решена задача исследований по обоснованию пределов концентраций амида миристиновой кислоты и амида олеиновой кислоты и режима обработки рыб, при которых ещё со-

храняется антипротозойная активность растворов, а рыбы сохраняют жизнеспособность. Исследованиями установлено, что максимально переносимая концентрация для рыб водного раствора амида миристиновой кислоты составляет 0,2 мкг/мл, амида олеиновой кислоты – 1 мкг/мл. Также установлено, что химиотерапевтический индекс предлагаемых соединений с увеличением экспозиции возрастает, то есть при увеличении срока воздействия на простейших протистоцидный эффект проявляется при меньших концентрациях.

### Список источников

1. Бодрякова М. А., Зубенко А. А., Коваленко А. В., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н. Скрининг протистоцидной активности новых веществ из ряда амидов жирных кислот // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 83-85.
2. Зубенко А. А., Клименко А. И., Дробин Ю. Д., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н., Кононенко К. Н. Протистоцидная и антибактериальная активность новых производных нитропиридина // Ветеринария и кормление. 2020. № 6. С. 23-25.
3. Зубенко А. А., Фетисов Л. Н., Баядян Г. В., Бодрякова М. А., Бодряков А. Н. Проблемы поиска протистоцидных средств // «Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и

- профилактике болезней животных»: материалы Всероссийской научно-практической конференции. 2017. С. 111-114.
4. Наумова А. М., Розумная Л. А., Логинов Л. С., Наумова А. Ю. Охрана здоровья рыб в племенных хозяйствах // Рыбное хозяйство. 2018. № 2. С. 83-85.
  5. Першина Г. Н. Методы экспериментальной химиотерапии. М.: Медицина, 1971. С. 8-11.
  6. Петришко В. Ю., Фирсова Г. Д. Инвазионные заболевания промысловых рыб, регистрируемые в акватории Ростовской области // Вестник аграрной науки. 2017. № 6 (69). С. 70-76.
  7. Петришко В. Ю., Фирсова Г. Д., Миронова А. А. Динамика инвазированности промысловых рыб в водоёмах ростовской области в 2012-2016 годах // Ветеринарная патология. 2018. № 2 (64). С. 11-16.
  8. Попов Л. Д., Зубенко А. А., Фетисов Л. Н., Дробин Ю. Д., Клименко А. И., Бодряков А. Н., Бородкин С. А., Мелкозерова И. Е. Синтез производных (1,3,4-оксадиазол-2-ил) акриловых кислот, обладающих антибактериальной и протистоцидной активностью // Биоорганическая химия. 2018. № 2 (44). С. 225-231.
  9. Пугачев О. Н., Крылов М. В., Белова Л. М. Кокцидии отряда Eimeriida рыб России и сопредельных территорий. Санкт-Петербург: монография. Российская академия наук, Зоологический ин-т, 2012. 99 с.
  10. Сафиуллин Р. Т., Титова Т. Г., Нуртдинова Т. А. Комплексная программа против кокцидиозов птиц для снижения циркуляции резистентных форм эймерий на птицеводческой площадке // Российский паразитологический журнал. 2017. № 3. С. 288-298.
  11. Суздаев К. Ф., Попов Л. Д., Зубенко А. А., Дробин Ю. Д., Фетисов Л. Н., Бодряков А. Н., Сербинская Н. М. Синтез, фунгистатическая, протистоцидная и антибактериальная активность 1-(3-амино-2-гидроксипропил) индолов // Биоорганическая химия. 2018. Т. 44. № 2. С. 217-224.
  12. Тахтаджян А. Л. Четыре царства органического мира // Природа. 1973. № 2. С. 22-32.
  13. Фирсова Г. Д., Петришко В. Ю. Влияние инвазионных заболеваний промысловых рыб акватории Ростовской области на качество и безопасность продукции // «Актуальные проблемы и методические подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных»: материалы международной научно-практической конференции. 2018. С. 168-171.
  14. Фетисов Л. Н., Зубенко А. А., Бодряков А. Н., Бодрякова М. А. Изыскание протистоцидных средств // «Современные проблемы общей и частной паразитологии»: международный паразитологический симпозиум. Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2012. 4/1. С. 70-72.
  15. Фетисов Л. Н., Зубенко А. А., Бодряков А. Н., Клименко А. И., Василенко В. Н., Бодрякова М. А. Способ лечения кокцидиоза птицы / Патент на изобретение RU 2526166 C1, 20.08.2014. Заявка № 2013133256/15 от 16.07.2013.
  16. Чекрышева В. В., Фетисов Л. Н., Святогорова А. Е., Кононенко К. Н. Токсичность катионо-активного соединения амида миристиновой кислоты для аквариумных рыб // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2021. № 3 (63). С. 254-262. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2021-03-26>.
  17. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Borodkin G. S., Metelitsa A. V., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobina Y. D., Zubavichus Y. V., Garnovskii D. A. Complexes of zinc(ii) with n-[2-(hydroxyalkyliminomethyl)phenyl]-4-methylbenzenesulfonamides: synthesis, structure, photoluminescence properties and biological activity. Polyhedron. 2018; 144: 249-258.
  18. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Kolodina A. A., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobina Y. D., Fetisov L. N., Zubavichus Y. V., Trigub A. L., Levchenkov S. I., Garnovskii D. A. Synthesis, characterization, luminescent properties and biological activities of zinc complexes with bidentate azomethine schiff-base ligands. Polyhedron. 2018; 154: 65-76.
  19. Karagodina N., Kolosov Y., Usatov A., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L. Influence of Various Bio-Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma. World Applied Sciences Journal. 2014; 30 (6): 723-726.
  20. Maitê Coelho Florindo, Gabriela Tomas Jerônimo, Lilian Dordete Steckert, Monyele Acchile, Eduardo Luiz Tavares Gonçalves, Lucas Cardoso1 & Maurício Laterça Martins. Protozoan parasites of freshwater ornamental fish. Lat. Amer. J. Aquat. Res. 2017; 45 (5): 948-956.
  21. Mauricio Laterça Martins, Lucas Cardoso; Natalia Marchiori; Santiago Benites de Pádua. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. Braz. J. Vet. Parasitol. 2015; 24 (1): 1-20.

Статья поступила в редакцию 26.10.2021; принята к публикации 15.06.2022

Об авторах:

**Фетисов Леонид Николаевич**, ВСКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>, fetisoff.leonid2018@yandex.ru



**Святогорова Александра Евгеньевна**, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, младший научный сотрудник, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>, [sviatogorova.a@yandex.ru](mailto:sviatogorova.a@yandex.ru)

**Кононенко Кристина Николаевна**, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, младший научный сотрудник, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>, [velikayakrista@mail.ru](mailto:velikayakrista@mail.ru)

**Чекрышева Виктория Владимировна**, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, кандидат ветеринарных наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>, [veterinar1987@mail.ru](mailto:veterinar1987@mail.ru)

**Зубенко Александр Александрович**, СКЗНИВИ – филиал ФГБНУ ФРАНЦ (346421, Ростовская область, г. Новочеркасск, Ростовское шоссе, д. 0), г. Новочеркасск, Россия, доктор биологических наук, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>, [alexandrzubenko@yandex.ru](mailto:alexandrzubenko@yandex.ru)

*Вклад соавторов:*

**Фетисов Леонид Николаевич** – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

**Святогорова Александра Евгеньевна** – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных, подготовка статьи.

**Кононенко Кристина Николаевна** – вклад в замысел и дизайн исследования, сбор данных, анализ и интерпретация данных.

**Чекрышева Виктория Владимировна** – научное руководство, критический анализ материалов и формирование выводов, обзор исследований по проблеме.

**Зубенко Александр Александрович** – научное руководство, критический анализ материалов и формирование выводов, обзор исследований по проблеме, окончательное одобрение варианта статьи для опубликования.

*Авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

## References

- Bodryakova M. A., Zubenko A. A., Kovalenko A. V., Fetisov L. N., Bodryakov A. N. Protistocidal activity screening of new substances from the fatty acid amide family. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Bulletin of the Orenburg State Agrarian University*. 2014; 6 (50): 83-85. (In Russ.)
- Zubenko A. A., Klimenko A. I., Drobin Yu. D., Fetisov L. N., Bodryakov A. N., Kononenko K. N., Protistocidal and antibacterial activity of new nitro-pyridine derivatives. *Veterinariya i kormleniye = Veterinary Medicine and Feeding*. 2020; 6: 23-25. (In Russ.)
- Zubenko A. A., Fetisov L. N., Bayadyan G. V., Bodryakova M. A., Bodryakov A. N. Issues in the search for anti-protist drugs. «Aktual'nyye problemy i metodicheskiye podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike bolezney zhivotnykh»: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii = "Current issues and methodological approaches to diagnosis, treatment and prevention of animal diseases": the All-Russian Scientific and Practical Conference proceedings. 2017; 111-114. (In Russ.)
- Naumova A. M., Rozumnaya L. A., Loginov L. S., Naumova A. Yu. Protection of fish health on breeding farms. *Rybnoye khozyaystvo = Fisheries*. 2018; 2: 83-85. (In Russ.)
- Pershina G. N. Methods of experimental chemotherapy. M.: Medicine, 1971; 8–11. (In Russ.)
- Petrishko V. Yu., Firsova G. D. Parasitic diseases of commercial fish registered in the waters of the Rostov region. *Vestnik agrarnoy nauki = Bulletin of Agrarian Science*. 2017; 6 (69): 70-76. (In Russ.)
- Petrishko V. Yu., Firsova G. D., Mironova A. A. Dynamics of the commercial fish invasion in the water areas of the Rostov region in 2012–2016. *Veterinarnaya patologiya = Veterinary Pathology*. 2018; 2 (64): 11-16. (In Russ.)
- Popov L. D., Zubenko A. A., Fetisov L. N., Drobin Yu. D., Klimenko A. I., Bodryakov A. N., Borodkin S. A., Melkozerova I. E. Synthesis of (1,3,4-oxadiazol-2-yl) acrylic acid derivatives with antibacterial and protistocidal activity. *Bioorganic Chemistry*. 2018; 2 (44): 225-231. (In Russ.)
- Pugachev O. N., Krylov M. V., Belova L. M. Fish coccidia of the order Eimeriida in Russia and adjacent areas. St. Petersburg: monograph. Russian Academy of Sciences, Zoological Institute, 2012; 99. (In Russ.)
- Safullin R. T., Titova T. G., Nurtdinova T. A. Complex program against the coccidiosis of birds to reduce the circulation of resistant forms of Eimeria spp. on the poultry ground. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2017; 3: 288-298. (In Russ.)
- Suzdalev K. F., Popov L. D., Zubenko A. A., Drobin Yu. D., Fetisov L. N., Bodryakov A. N., Serbinovskaya N. M. Synthesis, and fungistatic, protistocidal and antibacterial activity of 1-(3-amino-2-hydroxypropyl) indoles. *Bioorganicheskaya himiya = Bioorganic Chemistry*. 2018; 44 (2): 217-224. (In Russ.)
- Takhtadzhyan A. L. Four kingdoms of the organic world. *Priroda = Nature*. 1973; 2: 22-32. (In Russ.)

13. Firsova G. D., Petrishko V. Yu. Influence of invasive diseases of commercial fish in the Rostov Region waters on product quality and safety. «Aktual'nyye problemy i metodicheskiye podkhody k diagnostike, lecheniyu i profilaktike bolezney zhivotnykh»: materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii = "Current issues and methodological approaches to diagnosis, treatment and prevention of animal diseases": the International Scientific and Practical Conference proceedings. 2018; 168-171. (In Russ.)
14. Fetisov L. N., Zubenko A. A., Bodryakov A. N., Bodryakova M. A., Research on protistocidal agents. «Sovremennyye problemy obshchey i chastnoy parazitologii»: mezhdunarodnyy parazitologicheskii simpozium. Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii = "Current issues of general and special parasitology": International Symposium for Parasitology. Regulatory affairs in veterinary medicine. 2012; 4/1: 70-72. (In Russ.)
15. Fetisov L. N., Zubenko A. A., Bodryakov A. N., Klimenko A. I., Vasilenko V. N., Bodryakova M. A. Method for treatment of avian coccidiosis / Patent for Invention No. RU 2526166 C1 dated 20/08/2014. Application No. 2013133256/15 dated 16/07/2013.
16. Chekrysheva V. V., Fetisov L. N., Svyatogorova A. E., Kononenko K. N. Toxicity of the cation-active compound of myristic acid amide to aquarium fish. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vyssheye professional'noye obrazovaniye = Bulletin of the Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Professional Education*. 2021; 3 (63): 254-262. (In Russ.) <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2021-03-26>.
17. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Borodkin G. S., Metelitsa A. V., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobin Y. D., Zubavichus Y. V., Garnovskii D. A. Complexes of zinc(II) with n-[2-(hydroxyalkyliminomethyl)phenyl]-4-methylbenzenesulfonamides: synthesis, structure, photoluminescence properties and biological activity. *Polyhedron*. 2018; 144: 249-258.
18. Burlov A. S., Koshchienko Y. V., Makarova N. I., Kolodina A. A., Vlasenko V. G., Zubenko A. A., Drobin Y. D., Fetisov L. N., Zubavichus Y. V., Trigub A. L., Levchenkov S. I., Garnovskii D. A. Synthesis, characterization, luminescent properties and biological activities of zinc complexes with bidentate azomethine schiff-base ligands. *Polyhedron*. 2018; 154: 65-76.
19. Karagodina N., Kolosov Y., Usatov A., Bakoev S., Kolosov A., Leonova M., Shirokova N., Svyatogorova A., Getmantseva L. Influence of Various Bio-Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma. *World Applied Sciences Journal*. 2014; 30 (6): 723-726.
20. Maitê Coelho Florindo, Gabriela Tomas Jerônimo, Lilian Dordete Steckert, Monyele Acchile, Eduardo Luiz Tavares Gonçalves, Lucas Cardoso & Maurício Laterça Martins. Protozoan parasites of freshwater ornamental fish. *Lat. Amer. J. Aquat. Res*. 2017; 45 (5): 948-956.
21. Mauricio Laterça Martins, Lucas Cardoso; Natalia Marchiori; Santiago Benites de Pádua. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Braz. J. Vet. Parasitol*. 2015; 24 (1): 1-20.

The article was submitted 26.10.2021; accepted for publication 15.06.2022

#### About the authors:

**Fetisov Leonid N.**, North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute (0 Rostovskoye shosse, Novocherkassk, Rostov Region, 346421), Novocherkassk, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2618-1079>, fetisoff.leonid2018@yandex.ru

**Svyatogorova Alexandra E.**, North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Junior Staff Scientist, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4233-1740>, sviatogorova.a@yandex.ru

**Kononenko Kristina N.**, North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Junior Staff Scientist, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-9189>, velikayakrista@mail.ru

**Chekrysheva Viktoria V.**, North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Cand. Sc. Vet., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2793-321X>, veterinar1987@mail.ru

**Zubenko Aleksandr A.**, North Caucasian Zonal Scientific Research Veterinary Institute, Novocherkassk, Russia, Dr. Sc. Biol., ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7943-7667>, alexsandrzubenko@yandex.ru

#### Contribution of co-authors:

**Fetisov Leonid N.** – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article preparation.

**Svyatogorova Alexandra E.** – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation, article preparation.

**Kononenko Kristina N.** – contribution to the study concept and design, data collection, data analysis and interpretation.

**Chekrysheva Viktoria V.** – academic supervision, critical analysis of materials and conclusion generation, studies review on the issue.

**Zubenko Aleksandr A.** – academic supervision, critical analysis of materials and conclusion generation, studies review on the issue, final approval of the article version for publication.

All authors have read and approved the final manuscript.